

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
24. Februar 2005 (24.02.2005)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer

WO 2005/016965 A1 not. JS

(51) Internationale Patentklassifikation⁷: C07K 14/705,
A61P 9/06

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP2004/007364

(22) Internationales Anmeldedatum:
6. Juli 2004 (06.07.2004)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:
103 32 685.5 18. Juli 2003 (18.07.2003) DE

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von
US): BAYER HEALTHCARE AG [DE/DE]; 51368 Lev-
erkusen (DE).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): ELLINGHAUS, Peter
[DE/DE]; Ausblick 100, 42113 Wuppertal (DE). MÜN-
TER, Klaus [DE/DE]; Memeler Str. 54, 42489 Wülfrath
(DE).

(74) Gemeinsamer Vertreter: BAYER HEALTHCARE AG;
Law and Patents, Patents and Licensing, 51368 Leverkusen
(DE).

(81) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für
jede verfügbare nationale Schutzrechtsart): AE, AG, AL,
AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH,
CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES,
FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE,
KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD,
MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG,
PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM,
TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM,
ZW.

(84) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für
jede verfügbare regionale Schutzrechtsart): ARIPO (BW,
GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG,
ZM, ZW), eurasisches (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU,
TJ, TM), europäisches (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK,
EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PL, PT,
RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA,
GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Veröffentlicht:

— mit internationalem Recherchenbericht

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Ab-
kürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Co-
des and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der
PCT-Gazette verwiesen.

Le A 36 823

(54) Title: MODULATORS OF THE POTASSIUM CHANNELS TWIK-1, TASK-1, GIRK1, SK2 OR PCN1, USED TO TREAT
ARRHYTHMIA, CORONARY HEART DISEASE OR HYPERTENSION

(54) Bezeichnung: MODULATOREN DER KALIUMKANÄLE TWIK-1, TASK-1, GIRK1, SK2 ODER PCN1 ZUR BEHAND-
LUNG VON ARRHYTHMIEN, KORONARER HERZKRANKHEITEN ODER BLUTHOCHDRUCK

(57) Abstract: The invention relates to the use of modulators of the potassium channels TWIK-1, TASK-1, GIRK1 SK2 and PCN1
in the production of a medicament for the treatment and/or prophylaxis of cardiac dysrhythmia (arrhythmia), coronary heart disease
and hypertension.

(57) Zusammenfassung: Die Erfindung betrifft die Verwendung von Modulatoren der Kaliumkanäle TWIK-1, TASK-1, GIRK1
SK2 und PCN1 zur Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung und/oder Prophylaxe von Herzrhythmusstörungen (Arrhyth-
mien), koronaren Herzkrankheiten, sowie Bluthochdruck.

BEST AVAILABLE COPY

WO 2005/016965 A1

MODULATOREN DER KALIUMKANÄLE TWIK-1, TASK-1, GIRK1, SK2 ODER PCN1 ZUR
BEHANDLUNG VON ARRHYTHMIEN, KORONARER HERZKRANKHEITEN ODER BLUTHOCHDRUCK

Die Erfindung betrifft die Verwendung von Kaliumkanal-Modulatoren zur Herstellung eines
Arzneimittels zur Behandlung und/oder Prophylaxe von Herzrhythmusstörungen, koronaren
5 Herzkrankheiten sowie Bluthochdruck oder einer Kombination der genannten Erkrankungen.

Die Zellen des Sinusknotens im rechten Vorhof des Herzens haben die Funktion eines
physiologischen Schrittmachers, da dort in regelmäßigen Intervallen eine elektrische Erregung
ihren Ursprung hat. Verantwortlich für die Erregungsleitung ist eine Membranpotentialänderung,
die durch die Konzentration verschiedener Ionen auf beiden Seiten einer Zellmembran bestimmt
10 wird (Na^+ , K^+ und Ca^{2+}). Diese Ionen passieren die Zellmembran durch ionenselektive Kanäle, die
aus mehreren Untereinheiten bestehen und zusammen eine Pore bilden. Während einer Herzaktion
(Systole) durchläuft die Herzmuskelzelle ein Aktionspotential, das sich aus den Phasen 0-3
zusammensetzt und an dem alle drei o. g. Typen von Ionenkanälen beteiligt sind. Die Aktion
beginnt mit einer raschen Depolarisation (Phase 0), an der vor allem Na^+ -Kanäle beteiligt sind,
15 gefolgt von einer transienten, unvollständigen Repolarisation (Phase 1) die in die lang anhaltende
Plateauphase (Phase 2) übergeht und an der vor allem Ca^{2+} -Kanäle beteiligt sind. Die Phase 3
repräsentiert die Repolarisation und ist damit für die Wiederherstellung des Ruhezustandes verant-
wortlich. Der zur Repolarisation notwendige K^+ -Ausstrom wird durch Kaliumkanäle vermittelt.
Während des gesamten Aktionspotentials ist die Membran vor einem weiteren depolarisierenden
20 Reiz geschützt, sie ist refraktär (1).

Bei Arrhythmien kommt es entweder zu Störungen der Erregungsbildung, der Erregungsleitung
oder einer Kombination aus beiden. Ursache hierfür können Ischämien, entzündliche
Erkrankungen des Herzmuskels aber auch Intoxikationen oder vegetative Einflüsse sein.
Substanzen und Verfahren, die die Erregungsbildung oder Weiterleitung beeinflussen, werden
25 therapeutisch zur Behandlung von Arrhythmien eingesetzt. Substanzen, die den repolarisierenden
 K^+ -Strom verzögern und dadurch Aktionspotentialdauer und Refraktärzeit verlängern, gehören zu
den sog. Klasse-III-Antiarrhythmika von denen zur Zeit in Deutschland Amiodaron und Sotalol
zugelassen sind (1).

Beide Substanzen sind allerdings keine selektiven Kaliumkanalblocker. So zeigt Sotalol neben
30 einer Blockade verschiedener K^+ -Kanäle (z. B. HERG) auch antagonistische Eigenschaften für
beta-adrenerge Rezeptoren während Amiodaron neben HERG auch den L-Typ Ca^{2+} -Kanal und
 Na^+ -Kanäle blockiert (1), (2).

Ebenso wie die anderen Klassen von Antiarrhythmika besitzen auch die Klasse-III Kaliumkanalblocker ein beträchtliches pro-arrhythmisches Potential, welches auf die gleichzeitige Beeinflussung der Kaliumkanäle im Ventrikel zurückgeführt wird und den klinischen Einsatz limitiert. Insofern kommt der Identifizierung von bevorzugt im Vorhof exprimierten Kaliumkanälen als möglichen Antiarrhythmika-targets eine besondere Bedeutung zu, da hierdurch die Nebenwirkungen, die bis zu tödlichem Kammerflimmern reichen, gesenkt werden könnten (3).

Neben Kaliumkanalblockern wie Sotalol und Amiodaron sind auch anti-arrhythmische Wirkungen von Kaliumkanalöffnern z. B. für den ATP-abhängigen Kaliumkanal beschrieben (4).

In der vorliegenden Arbeit wurden mittels Affymetrix-MicroArray-Technologie Gene identifiziert, die im humanen Herz differentiell zwischen linkem Vorhof und linkem Ventrikel exprimiert werden. (s. Fig. 1). Die Verifizierung der differentiellen Expression ausgewählter Gene erfolgte mittels Real-time PCR (TaqMan). Dabei zeigte sich, dass bei allen 6 untersuchten Patienten die Kaliumkanäle TWIK-1 (5), TASK-1 (6), GIRK1 (7), SK2 (8) und PCN1 (9) deutlich stärker im Vorhof als im Ventrikel exprimiert werden (s. Fig. 3).

Die vorliegende Erfindung betrifft daher die Verwendung von Modulatoren der zuvor genannten Kaliumkanäle zur Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung und/oder der Prophylaxe der oben genannten Krankheiten.

Kaliumkanalmodulatoren im Sinne der vorliegenden Offenbarung sind Substanzen, welche die Öffnungsdauer der genannten Kaliumkanäle verlängern oder verkürzen.

Modulatoren im Sinne der Erfindung sind alle Substanzen, die eine Veränderung der biologischen Aktivität der Kanäle bewirken. Besonders bevorzugte Modulatoren sind Nukleinsäuren inklusive „locked nucleic acids“, „peptide nucleic acids“ und „Spiegelmer“, Proteine inklusive Antikörper und niedermolekulare Substanzen, ganz besonders bevorzugte Modulatoren sind niedermolekulare Substanzen.

Die Erfindung betrifft die Verwendung von Modulatoren der Kaliumkanäle TWIK-1, TASK-1, GIRK1, SK2 oder PCN1 zur Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung und/oder Prophylaxe von Herzrhythmusstörungen (Arrhythmien), koronarer Herzkrankheiten oder Bluthochdruck.

Desweiteren betrifft die Erfindung die Verwendung von Modulatoren der Kaliumkanäle TWIK-1, TASK-1, GIRK1, SK2 oder PCN1 mit einem IC_{50} von $< 1 \mu M$, besonders bevorzugt von $< 100 nM$ zur Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung und/oder Prophylaxe von Herzrhythmusstörungen (Arrhythmien), koronarer Herzkrankheiten oder Bluthochdruck.

Ein weiterer Erfindungsgegenstand ist eine Methode zum Screenen von Testverbindungen zur Identifizierung von Modulatoren der Kaliumkanäle TWIK-1, TASK-1, GIRK1, SK2 oder PCN1, welche geeignet sind für die Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung und/oder Prophylaxe von Herzrhythmusstörungen (Arrhythmien), koronarer Herzkrankheiten oder Bluthochdruck.

5 Gegenstand der Erfindung ist ebenfalls eine pharmazeutische Zusammensetzung, enthaltend einen Modulator oder mehrere Modulatoren der Kaliumkanäle TWIK-1, TASK-1, GIRK1, SK2 oder PCN1 zur Behandlung und/oder Prophylaxe von Herzrhythmusstörungen (Arrhythmien), koronarer Herzkrankheiten oder Bluthochdruck.

10 Erfindungsgegenstand ist des weiteren die Verwendung von Modulatoren der Kaliumkanäle TWIK-1, TASK-1, GIRK1, SK2 oder PCN1 für die Regulation der Aktivität der entsprechenden Kaliumkanäle in einem Lebewesen einschließlich des Menschen zur Behandlung und/oder Prophylaxe von Herzrhythmusstörungen (Arrhythmien), koronarer Herzkrankheiten oder Bluthochdruck.

15 Die Erfindung betrifft auch Modulatoren der Kaliumkanäle TWIK-1, TASK-1, GIRK1, SK2 oder PCN1 zur Behandlung und/oder Prophylaxe von Herzrhythmusstörungen (Arrhythmien), koronarer Herzkrankheiten oder Bluthochdruck.

20 Erfindungsgemäß ist ebenfalls die Verwendung von Modulatoren von Genprodukten, welche im humanen Herz differentiell zwischen linkem Vorhof und linkem Ventrikel exprimiert werden, zur Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung von Arrhythmien, koronaren Herzkrankheiten, Bluthochdruck und den Folgen der Atherosklerose. Da in Abhängigkeit von der Funktion des Genproduktes durchaus auch eine verstärkte Expression im Ventrikel bevorzugt sein kann (z. B. für den Endothelin A-Rezeptor), wird hier der Begriff differentieller Genexpression verwendet.

25 Ein weiterer Erfindungsgegenstand ist eine Methode zum Screenen von Testverbindungen zur Identifizierung von Modulatoren von Genprodukten, welche im humanen Herz differentiell zwischen linkem Vorhof und linkem Ventrikel exprimiert werden, die geeignet sind für die Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung und/oder Prophylaxe von Herzrhythmusstörungen (Arrhythmien), koronarer Herzkrankheiten oder Bluthochdruck.

30 Gegenstand der Erfindung ist ebenfalls eine pharmazeutische Zusammensetzung, enthaltend einen Modulator oder mehrere Modulatoren von Genprodukten, welche im humanen Herz differentiell zwischen linkem Vorhof und linkem Ventrikel exprimiert werden, zur Behandlung und/oder Prophylaxe von Herzrhythmusstörungen (Arrhythmien), koronarer Herzkrankheiten oder Bluthochdruck.

Erfindungsgegenstand ist des weiteren die Verwendung von Modulatoren von Genprodukten, welche im humanen Herz differentiell zwischen linkem Vorhof und linkem Ventrikel exprimiert werden, für die Regulation der Aktivität der entsprechenden Genprodukte in einem Lebewesen einschließlich des Menschen zur Behandlung und/oder Prophylaxe von Herzrhythmusstörungen (Arrhythmien), koronarer Herzkrankheiten oder Bluthochdruck.

Die Erfindung betrifft auch Modulatoren von Genprodukten, welche im humanen Herz differentiell zwischen linkem Vorhof und linkem Ventrikel exprimiert werden, zur Behandlung und/oder Prophylaxe von Herzrhythmusstörungen (Arrhythmien), koronarer Herzkrankheiten oder Bluthochdruck.

10 Substanzen, die eine modulierende Wirkung auf die Aktivität der genannten Kanäle haben, können mit dem unten beschriebenen Assay identifiziert werden (Screening).

Die Testung der anti-arrhythmischen Wirkung *in vivo* erfolgt mit dem unten beschriebenen Tierversuch.

Beschreibung der Figuren

Figur 1: Tabellarisch aufgelistet sind Gene, die bei allen 6 untersuchten Patienten übereinstimmend differentiell exprimiert zwischen Vorhof und Ventrikel gefunden wurden.

Figur 2: Tabellarisch aufgelistet sind die Genbank Accession-Nummern der mittels TaqMan-PCR verifizierten Gene sowie die dafür verwendeten Primer/Sonden-Sequenzen.

15 **Figur 3:** Dargestellt ist die relative mRNA-Expression der Kaliumkanäle TWIK-1, TASK-1, GIRK1 SK2 und PCN1 in humanen Herzen (linker Vorhof [schwarz] und linker Ventrikel [weiss]).

Figur 4: Dargestellt ist die relative Proteinexpression des Kaliumkanals TASK-1 in humanen Herzen als Mittelwert aus allen 6 Patienten. (linker Vorhof [schwarz] und linker Ventrikel [weiss]).

Beispiele

Beispiel 1: Identifizierung differentiell exprimierter Gene zwischen humanem Ventrikel und Vorhof

Kleine Stücke (ca. 0,5 g) vom linken Ventrikel bzw. vom linken Vorhof explantierter Herzen wurden mit Einverständnis der Spender vom Herzzentrum Halle (Prof. Morawietz) erhalten. Die Gesamt-RNA hieraus wurde nach Homogenisierung der Gewebe mittels RNeasy-Säulen (Fa. Qiagen) gemäß der Anleitung isoliert. Die Umschreibung von jeweils 10 µg Gesamt-RNA in cDNA, deren anschließende lineare Amplifikation sowie die Hybridisierung der biotinylierten cRNA auf humanen HG-U133A Arrays erfolgte gemäß dem „Affymetrix User Guide“ unter Verwendung von Superscript-II (Fa. Gibco) und des „High Yield cRNA labeling Kits (Fa. Enzo). Der HG-U133A Array erlaubt prinzipiell die simultane mRNA-Analyse von ca. 22.600 humanen Genen. Die Auswertung der Arrays erfolgte mit der Software MAS 5.0 (Fa. Affymetrix) und Gene Spring 5.0 (Fa. Silicon Genetics). In Fig. 1 sind die Gene zusammengefasst, die in allen 6 untersuchten Patienten zwischen Vorhof und Ventrikel differentiell exprimiert wurden. Angegeben ist der Quotient der normierten Expression aus Vorhof und Ventrikel, und zwar jeweils als Mittelwert aus allen 6 Probanden.

Die mittels Array zwischen Vorhof und Ventrikel gefundene differentielle Expression der Kaliumkanäle TWIK-1, TASK-1, GIRK1, SK2 und PCN1 wird durch die Quantifizierung der mRNA in einer Echtzeit-Polymerasekettenreaktion verifiziert (10). Hierzu wird die Gesamt-RNA wie oben beschrieben aus den humanen Myokardproben isoliert und je 1 µg davon zur Entfernung von Kontaminationen genomischer DNA mit 1 Einheit DNase I (Fa. Gibco) für 15 min bei Raumtemperatur umgesetzt. Die Inaktivierung der DNase I erfolgt durch Zugabe von 1 µl EDTA (25 mM) und nachfolgendes Erhitzen auf 65°C (10 min). Anschließend wird im selben Reaktionsansatz die cDNA-Synthese gemäß der Anleitung zum „SUPERScript-II RT cDNA synthesis kit“ (Fa. Gibco) durchgeführt und das Reaktionsvolumen mit destilliertem Wasser auf 200 µl aufgefüllt.

Für die PCR wird zu je 5 µl der verdünnten cDNA-Lösung 7,5 µl Gemisch von Primer und Sonde sowie 12,5 µl TaqMan-Reaktionslösung [Universal Master Mix (Fa. Applied Biosystems)] gegeben. Die Endkonzentration der Primer ist jeweils 300 nM, die der Sonde 150 nM. Die Sequenzen der Primer sowie die Genbank Accession-Nummern der analysierten Gene sind in Fig. 2 angegeben. Die Identifizierung geeigneter Primer- und Sondensequenzen erfolgte mit dem Programm Primer Express 5.0 (Fa. Applied Biosystems), die PCR erfolgt auf einem ABI-Prism-SDS-7700-Gerät (Fa. Applied Biosystems) gemäß der Anleitung des Herstellers. Aufgezeichnet wird bei der Real-time PCR der sog. Ct-Wert, der für das betreffende Gen im untersuchten Gewebe erhalten wird. Dieser

entspricht dem Zyklus, in dem die Fluoreszenzintensität der freigesetzten Sonde ca. 10 Standardabweichungen über dem Hintergrundsignal liegt. Je niedriger der Ct-Wert, umso früher beginnt also die Vervielfältigung, d. h. je mehr mRNA ist in der ursprünglichen Probe enthalten. Zum Ausgleich eventueller Schwankungen bei der cDNA-Synthese wird in allen untersuchten Gewe-

5 weben auch die Expression eines sog. „Haushaltsgenes“ analysiert. Dieses sollte in allen Geweben ungefähr gleich stark exprimiert werden. Für die Normierung der Kaliumkanalexpressionen wurde für Vorhof und Ventrikel einheitlich β -Actin verwendet. Für die graphische Darstellung der relativen mRNA-Expression wird für jedes Gen und jedes Gewebe der dCt-Wert berechnet. Der dCt-Wert ist die Differenz zwischen dem Ct-Wert des untersuchten Kaliumkanals und dem Ct-

10 Wert des Haushaltsgens im jeweiligen Gewebe. Aus diesem Wert wird nach folgender Formel die relative Expression rE berechnet: $rE = 2^{(20-dCt)}$ Diese ist in Fig. 3 als dimensionslose Zahl angegeben.

Für den Kaliumkanal TASK-1 wurde unter Verwendung eines käuflichen Antikörpers (Fa. Santa Cruz) die Protein-Expression analysiert. Hierzu wurden kleine Gewebestücke (ca. 50 mg) in 1 X

15 PBS (mit 1 % Triton) homogenisiert und nach Zentrifugation und Konzentrationsbestimmung (BCA-Tet, Fa. Pierce) ein Western Blot durchgeführt (10 % Nupage-Gel). Die Detektion erfolgte mittels des ECL-Systems (Fa. Amersham) unter Verwendung eines HRP-konjugierten Anti-goat IgG-Antikörpers. Der belichtete Film wurde in einem Bioimager (Fa. Fuji) densitrometrisch ausgewertet. Das Ergebnis in Fig. 4 als dimensionslose Zahl angegeben.

20 Beispiel 2: Identifizierung von Kaliumkanalmodulatoren

Die Identifizierung von Kaliumkanalmodulatoren erfolgt in einem zellulären Assay bei dem CHO-Zellen den jeweiligen Ionenkanal rekombinant exprimieren und unter Verwendung des potentialsensitiven Farbstoffs Dye B aus dem „FLIPR membrane potential assay kit“ (Fa. Molecular Probes). Eine Depolarisation der Zellen durch eine chemische Substanz führt zu einer vermehrten

25 Aufnahme des Farbstoffs „Dye B“ und dadurch zu einer erhöhten intrazellulären Fluoreszenzintensität. Eine Hyperpolarisation der Zelle durch eine chemische Substanz führt dagegen zu einer Abnahme der Farbstoffkonzentration in der Zelle und damit auch zu einer Abnahme der Fluoreszenzintensität, da die Quantenausbeute von Dye B in wässriger Lösung geringer ist. Zur Messung werden konfluente Zellen verwendet, die nach Entfernen des Mediums entsprechend den

30 Vorschriften des Kit-Herstellers (Molecular Probes) bei Raumtemperatur mit dem Farbstoff Dye B beladen werden. Die Fluoreszenzmessung erfolgt ebenfalls bei Raumtemperatur in einer Fluobox (Fa. Tecan) bei einer Anregungswellenlänge von 520 nm und einer Absorptionswellenlänge von 575 nm, wie zum Beispiel beschrieben in (11).

Beispiel 3: Testung der *in vivo* Wirkung von Kaliumkanalmodulatoren

Der Einfluss der Kaliumkanalmodulatoren auf die Herzfrequenz wird an narkotisierten Ratten untersucht. Hierzu werden männliche Wistarratten (250-300g) mit 10mg/kg Thiobutabarbitol i. p. (Inactin, Byk Gulden) narkotisiert und anschließend getötet. Nach Thoraxeröffnung wird das Herz freigelegt, der rechte Vorhof isoliert und unter einer 1g-Vorspannung in einer 30°C warmen Krebs-Henseleit-Lösung (in einem 10 ml Organbad) aufbewahrt. Diese Lösung wird mit Carbogen (95% O₂, 5% CO₂) bei pH 7.2-7.4 begast. Die Vorhöfe schlagen spontan und nach Aufzeichnung einer Kontrollperiode (Parameter: Frequenz) werden die Testsubstanzen in einer Dosisreihe appliziert. Pro Dosis wird die Veränderung der Frequenz im Vergleich zu Placebo-behandelten Kontrollen ausgewertet.

Beispiel 4: Kaliumkanalmodulator-Formulierungen

Die Kaliumkanalmodulatoren können in bekannter Weise in die üblichen Formulierungen überführt werden, wie Tabletten, Dragees, Pillen, Granulate, Aerosole, Sirupe, Emulsionen, Suspensionen und Lösungen, unter Verwendung inerte, nicht toxischer, pharmazeutisch geeigneter Trägerstoffe oder Lösungsmittel. Hierbei soll die therapeutisch wirksame Verbindung jeweils in einer Konzentration von 0,5 bis 90 Gew.-% der Gesamtmischung vorhanden sein, d.h. in Mengen, die ausreichend sind, um den angegebenen Dosierungsspielraum zu erreichen.

Die Formulierungen werden beispielsweise hergestellt durch Strecken der Wirkstoffe mit Lösungsmitteln und/oder Trägerstoffen, gegebenenfalls unter Verwendung von Emulgiermitteln und/oder Dispergiermitteln, wobei z.B. im Fall der Benutzung von Wasser als Verdünnungsmittel gegebenenfalls organische Lösungsmittel als Hilfslösungsmittel verwendet werden können.

Die Applikation erfolgt in üblicher Weise, vorzugsweise oral, transdermal, intravenös oder parenteral, insbesondere oral oder intravenös. Sie kann aber auch durch Inhalation über Mund oder Nase, beispielsweise mit Hilfe eines Sprays erfolgen, oder topisch über die Haut.

Im Allgemeinen hat es sich als vorteilhaft erwiesen, Mengen von etwas 0,001 bis 10 mg/kg, bei oraler Anwendung vorzugsweise etwa 0,005 bis 3 mg/kg Körpergewicht zur Erzielen wirksamer Ergebnisse zu verabreichen.

Trotzdem kann es gegebenenfalls erforderlich sein, von den genannten Mengen abzuweichen, und zwar in Abhängigkeit vom Körpergewicht bzw. der Art des Applikationsweges, vom individuellen Verhalten gegenüber dem Medikament, der Art von dessen Formulierung und dem Zeitpunkt bzw. Intervall, zu welchen die Verabreichung erfolgt. So kann es in einigen Fällen ausreichend sein, mit weniger als der vorgenannten Mindestmenge auszukommen, während in anderen Fällen die

genannte obere Grenze überschritten werden muss. Im Falle der Applikation größerer Mengen kann es empfehlenswert sein, diese in mehreren Einzelgaben über den Tag zu verteilen.

Literatur

1. Forth, Henschler, Rummel; Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie; Urban & Fischer Verlag München, 8. Auflage 2001, 429-433
- 5 2. Numaguchi H. et al., Probing the interaction between inactivation gating and Dd-solitol block of HERG, Circ. Res. 11 (2000) 1012-1018.
3. Nattel, S. et al., Evolution, mechanisms, and classification of antiarrhythmic drugs: focus on class III actions, Am. J. Cardiol. 84 (1999) 11R-19R.
4. Workmann, A. J. et al., A K(ATP) channel opener inhibited myocardial reperfusion action
10 potential shortening and arrhythmias.
5. Lesage, F. et al., TWIK-1, a ubiquitous human weakly inward rectifying K⁺ channel with a novel structure, EMBO J. 15 (1996) 1004-1011.
6. Duprat, F. et al., TASK, a human background K⁺ channel to sense external pH variations near physiological pH, EMBO J. 16 (1997) 5464-5471.
- 15 7. Stoffel, M. et al., Human G-protein-coupled inwardly rectifying potassium channel (GIRK1) gene (KCNJ3): localization to chromosome 2 and identification of a simple tandem repeat polymorphism, Genomics 21 (1994) 254-256.
8. Desai, R. et al., Ca²⁺-activated K⁺ channels in human leukemic Jurkat T cells. Molecular cloning, biochemical and functional characterization, J. Biol. Chem. 275 (2000) 39954-
20 39963.
9. Tamkun M. et al., Molecular cloning and characterization of two voltage-gated K⁺ channel cDNAs from human ventricle, FASEB J. 5 (1991) 331-337.
10. Heid C. et al., Real time quantitative PCR, Genome Res. 6 (1996) 986-9954.
11. EP906572(B1)

Patentansprüche

1. Verwendung von Modulatoren oder eines Modulators der Kaliumkanäle TWIK-1, TASK-1, GIRK1, SK2 oder PCN1 zur Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung und/oder Prophylaxe von Herzrhythmusstörungen (Arrhythmien), koronarer Herzkrankheiten oder Bluthochdruck.
5
2. Eine Methode zum Screenen von Testverbindungen zur Identifizierung von Modulatoren der Kaliumkanäle TWIK-1, TASK-1, GIRK1, SK2 oder PCN1, welche geeignet sind für die Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung und/oder Prophylaxe von Herzrhythmusstörungen (Arrhythmien), koronarer Herzkrankheiten oder Bluthochdruck.
- 10 3. Eine pharmazeutische Zusammensetzung, enthaltend einen Modulator oder mehrere Modulatoren der Kaliumkanäle TWIK-1, TASK-1, GIRK1, SK2 oder PCN1 zur Behandlung und/oder Prophylaxe von Herzrhythmusstörungen (Arrhythmien), koronarer Herzkrankheiten oder Bluthochdruck.
- 15 4. Modulator der Kaliumkanäle TWIK-1, TASK-1, GIRK1, SK2 oder PCN1 zur Behandlung und/oder Prophylaxe von Herzrhythmusstörungen (Arrhythmien), koronarer Herzkrankheiten oder Bluthochdruck.
- 20 5. Verwendung von Modulatoren von Genprodukten, welche im humanen Herz differentiell zwischen linkem Vorhof und linkem Ventrikel exprimiert werden, zur Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung von Herzrhythmusstörungen (Arrhythmien), koronaren Herzkrankheiten, oder Bluthochdruck.

Fig. 1

<i>Gen</i>	x-fach stärker im Vorhof MW n =6	Genbank-Acc. No.
sarcolipin	9,6	NM_003063
myosin, light polypeptide 4, alkali; atrial, embryonic	9,2	M36172
A kinase (PRKA) anchor protein 3	8,7	NM_006422
potassium channel, subfamily K, member 1 (TWIK-1)	6,7	U90065
up-regulated by BCG-CWS	5,6	AB040120
myosin, heavy polypeptide 6, cardiac muscle, alpha (cardiomyopathy, hypertrophic 1)	5,3	D00943
titin immunoglobulin domain protein (myotilin)	5,2	NM_006790
signal transducer and activator of transcription 4	4,9	NM_003151
nuclear receptor subfamily 2, group F, member 1 (COUP-TF 1)	4,2	AI951185
NADP-dependent retinol dehydrogenase/reductase	4,2	NM_005771
natriuretic peptide precursor B	4,2	NM_002521
desmocollin 1	4,1	NM_004948
potassium voltage-gated channel, shaker-related subfamily, member 5 (KCNA5)	4,0	NM_002234
secreted frizzled-related protein 1	4,0	NM_003012
phospholipase A2, group IIA (platelets, synovial fluid)	3,8	NM_000300
keratin 18	3,7	NM_000224
dickkopf homolog 3 (Xenopus laevis)	3,7	NM_013253

<i>Gen</i>	x-fach stärker im Vorhof MW n =6	Genbank-Acc. No.
natriuretic peptide precursor A	3,5	M30262
guanine nucleotide binding protein (G protein), beta 5	3,4	NM_006578
potassium channel, subfamily K, member 3 (TASK-1)	3,3	NM_002246
H factor 1 (complement)	3,1	X04697
up-regulated by BCG-CWS	3,0	NM_022154
phosphodiesterase 8B	3,0	AK023913
cartilage oligomeric matrix protein (pseudoachondroplasia, epiphyseal dysplasia 1, multiple)	2,9	NM_000095
complement component 3	2,7	NM_000064
sparc/osteonectin, cwcv and kazal-like domains proteoglycan (testican)	2,7	AF231124
phospholipase C, beta 1 (phosphoinositide-specific)	2,7	AL049593
actin, alpha 2, smooth muscle, aorta	2,7	NM_001613
chromosome 1 open reading frame 15	2,6	AF288395
corin	2,6	NM_006587
myosin light chain 2a	2,5	NM_021223
transmembrane 6 superfamily member 1	2,4	NM_023003
FK506 binding protein 11, 19 kDa	2,4	NM_016594
visinin-like 1	2,4	NM_003385
angiotensin II receptor, type 1	2,4	NM_004835

<i>Gen</i>	x-fach stärker im Vorhof MW n =6	Genbank-Acc. No.
H factor (complement)-like 2	2,3	X56210
NY-REN-58 antigen	2,3	NM_016122
similar to neuralin 1	2,2	AL049176
Duffy blood group	2,1	NM_002036
transgelin	2,0	NM_003186
potassium intermediate/small conductance calcium- activated channel, subfamily N, member 2	2,0	NM_021614
endothelin receptor type A	2,0	NM_001957
spermidine/spermine N1-acetyltransferase	2,0	NM_002970
transmembrane 4 superfamily member 2	2,0	NM_004615
B-cell translocation gene 1, anti-proliferative	2,0	NM_001731
phospholipase A2, group V	1,9	AL158172
fibulin 1	1,9	Z95331
spermidine/spermine N1-acetyltransferase	1,9	M55580
peptidylglycine alpha-amidating monooxygenase	1,9	BF038548
spermidine/spermine N1-acetyltransferase	1,9	BE971383
hephaestin	1,9	NM_014799
Ras-related-associated with diabetes	1,9	NM_004165
growth hormone receptor	1,8	NM_000163
peptidylglycine alpha-amidating monooxygenase	1,8	NM_000919

<i>Gen</i>	x-fach stärker im Vorhof MW n =6	Genbank-Acc. No.
WNT1 inducible signaling pathway protein 2	1,8	NM_003881
melanophilin	1,8	NM_024101
B-cell translocation gene 1, anti-proliferative	1,8	AL535380
adipose specific 2	1,8	NM_006829
reticulon 4	1,8	AF333336
protein kinase, AMP-activated, gamma 2 non-catalytic subunit	1,8	NM_016203
proteolipid protein 2 (colonic epithelium-enriched)	1,8	NM_002668
CD44 antigen (homing function and Indian blood group system)	1,8	BE903880
T-box 5	1,8	NM_000192
actinin, alpha 1	1,7	AI082078
D123 gene product	1,7	NM_006023
Ris	1,7	NM_016563
complement component 1, r subcomponent	1,7	AL573058
peroxiredoxin 1	1,7	L19184
S100 calcium binding protein A4 (calcium protein, calvasculin, metastasin, murine placental homolog)	1,6	NM_002961
annexin A4	1,6	NM_001153
phospholipase A2, group V	1,6	NM_000929
tubulin, beta polypeptide	1,6	NM_001069

<i>Gen</i>	x-fach stärker im Vorhof MW n =6	Genbank-Acc. No.
prostaglandin I2 (prostacyclin) synthase	1,6	NM_000961
Homo sapiens clone 24416 mRNA sequence	1,6	AV712602
complement component 7	1,6	NM_000587
epidermal growth factor receptor pathway substrate 8	1,6	NM_004447
aldo-keto reductase family 1, member C2 (dihydrodiol dehydrogenase 2; bile acid binding protein; 3-alpha hydroxysteroid dehydrogenase, type III)	1,6	M33376
Clq and tumor necrosis factor related protein 1	1,6	NM_030968
reticulon 4	1,5	AB015639
CD47 antigen (Rh-related antigen, integrin-associated signal transducer)	1,5	BG230614
hypothetical protein FLJ10097	1,5	AL523320
peptidylglycine alpha-amidating monooxygenase	1,5	AI022882
glutathione peroxidase 3 (plasma)	1,5	AW149846
catenin (cadherin-associated protein), alpha-like 1	1,5	NM_003798
DKFZP586A0522 protein	1,5	NM_014033
integrin associated protein mRNA	1,5	Z25521
homolog of yeast long chain polyunsaturated fatty acid elongation enzyme 2	1,5	AL136939
reticulon 4	1,5	AF320999
annexin A1	1,5	NM_000700

<i>Gen</i>	x-fach stärker im Vorhof MW n =6	Genbank-Acc. No.
HIV-1 TAR RNA binding protein (TARBP-b)	1,5	L22453
DEK oncogene (DNA binding)	1,5	NM_003472
CCAAT/enhancer binding protein (C/EBP), delta	1,5	NM_005195
aldo-keto reductase family 1, member A1 (aldehyde reductase)	1,5	NM_006066
KDEL (Lys-Asp-Glu-Leu) endoplasmic reticulum protein retention receptor 2	1,4	NM_006854
tropomyosin 1 (alpha)	1,4	Z24727
hydroxysteroid (17-beta) dehydrogenase 12	1,4	NM_016142
tissue inhibitor of metalloproteinase 3 (Sorsby fundus dystrophy, pseudoinflammatory)	1,4	NM_000362
ADP-ribosylation factor-like 5	1,4	NM_012097
nucleosome assembly protein 1-like 1	1,4	NM_004537
peptidylprolyl isomerase B (cyclophilin B)	1,4	NM_000942
delta-like 1 homolog (Drosophila)	0,1	U15979
myosin, light polypeptide 3, alkali; ventricular, skeletal, slow	0,1	NM_000258
HSKM-B protein	0,1	AF070592
ankyrin repeat domain 2 (stretch responsive muscle)	0,2	NM_020349

<i>Gen</i>	x-fach stärker im Vorhof MW n =6	Genbank-Acc. No.
KIAA1733 protein	0,2	AW054711
four and a half LIM domains 2	0,2	NM_001450
carboxypeptidase, vitellogenic-like	0,3	NM_031311
protein tyrosine phosphatase, non-receptor type 3	0,3	NM_002829
myosin, light polypeptide 2, regulatory, cardiac, slow	0,3	AF020768
gamma-aminobutyric acid (GABA) A receptor, alpha 4	0,3	NM_000809
dihydropyrimidinase-like 4	0,3	NM_006426
hypothetical protein FLJ20156	0,4	NM_017691
hypothetical protein FLJ14054	0,4	NM_024563
potassium inwardly-rectifying channel, subfamily J, member 2	0,4	AF153820
hypothetical protein FLJ32389	0,4	AL551046
ribosomal protein L3-like	0,4	NM_005061
NDRG family member 4	0,4	AV724216
hairy/enhancer-of-split related with YRPW motif 2	0,4	NM_012259
Homo sapiens, clone MGC:8772 IMAGE:3862861, mRNA, complete cds	0,4	BG332462
isocitrate dehydrogenase 2 (NADP+), mitochondrial	0,4	U52144
likely ortholog of mouse limb-bud and heart gene	0,5	NM_030915
hypothetical protein FLJ21901	0,5	NM_024622

<i>Gen</i>	x-fach stärker im Vorhof MW n =6	Genbank-Acc. No.
phospholipase C-like 1	0,5	NM_006226
lipoprotein lipase	0,5	NM_000237
LRP16 protein	0,5	NM_014067
phosphofructokinase, muscle	0,5	U24183
LIM domain binding 3	0,5	AA211481
protein kinase (cAMP-dependent, catalytic) inhibitor alpha	0,6	NM_006823
potassium inwardly-rectifying channel, subfamily J, member 8	0,6	BF514158
H2B histone family, member Q	0,6	NM_003528
NS1-binding protein	0,6	AF205218
acetyl-Coenzyme A acetyltransferase 1 (acetoacetyl Coenzyme A thiolase)	0,6	NM_000019
hyaluronoglucosaminidase 1	0,6	AF173154
potassium inwardly-rectifying channel, subfamily J, member 4	0,6	NM_004981
ras-like protein TC10	0,6	BF348067
crystallin, mu	0,6	NM_001888
ubiquitin specific protease 13 (isopeptidase T-3)	0,6	NM_003940
ras-like protein TC10	0,7	BF348067
actin, alpha 1, skeletal muscle	0,7	NM_001100

<i>Gen</i>	x-fach stärker im Vorhof MW n =6	Genbank-Acc. No.
L-3-hydroxyacyl-Coenzyme A dehydrogenase, short chain	0,7	AF001903
heat shock 27kDa protein family, member 7 (cardiovascular)	0,7	NM_014424

Fig. 2:

Gen	Genbank Accession Nummer.	Sequenz Primer 1 5'-3'	Sequenz Primer 2 5'-3'	Sequenz Sonde/"Probe" 5'-3'
TWIK-1	NM_002245 SEQ ID NO:1	tgaagaaggacaaggacgagga SEQ ID NO:2	gcctggctctgtatcgagga SEQ ID NO:3	caggtgcacatcatagagcatgaccaa SEQ ID NO:4
TASK-1	AF065163 SEQ ID NO:5	acgtctacgcggaggtgct SEQ ID NO:6	tctcgcgctctgtacc SEQ ID NO:7	cacttccagttccatgtgctcgtgcct SEQ ID NO:8
GIRK1	NM_002239 SEQ ID NO:9	gttcacgcaacattgaag SEQ ID NO:10	gggacgacatgagaagcatt SEQ ID NO:11	cccacccaccttacagtgtgaaa SEQ ID NO:12
SK2	AF239613 SEQ ID NO:13	tgcacagccctggtgtag SEQ ID NO:14	tccatcatgaaattgtgcacg SEQ ID NO:15	tggcaaggagctagaactaccaagcaga SEQ ID NO:16
PCN1	NM_002234 SEQ ID NO:17	cagggaacccatttcttagcat SEQ ID NO:18	tgccccgtagccacagt SEQ ID NO:19	acgccttctggtggcagtggtc SEQ ID NO:20
beta-Aktin	NM_001101 SEQ ID NO:21	tccaccttcagcagatgtg SEQ ID NO:22	ctagaagcatttgcggtggac SEQ ID NO:23	atcagcaagcaggagtagacgagtcg SEQ ID NO:24

Fig. 3

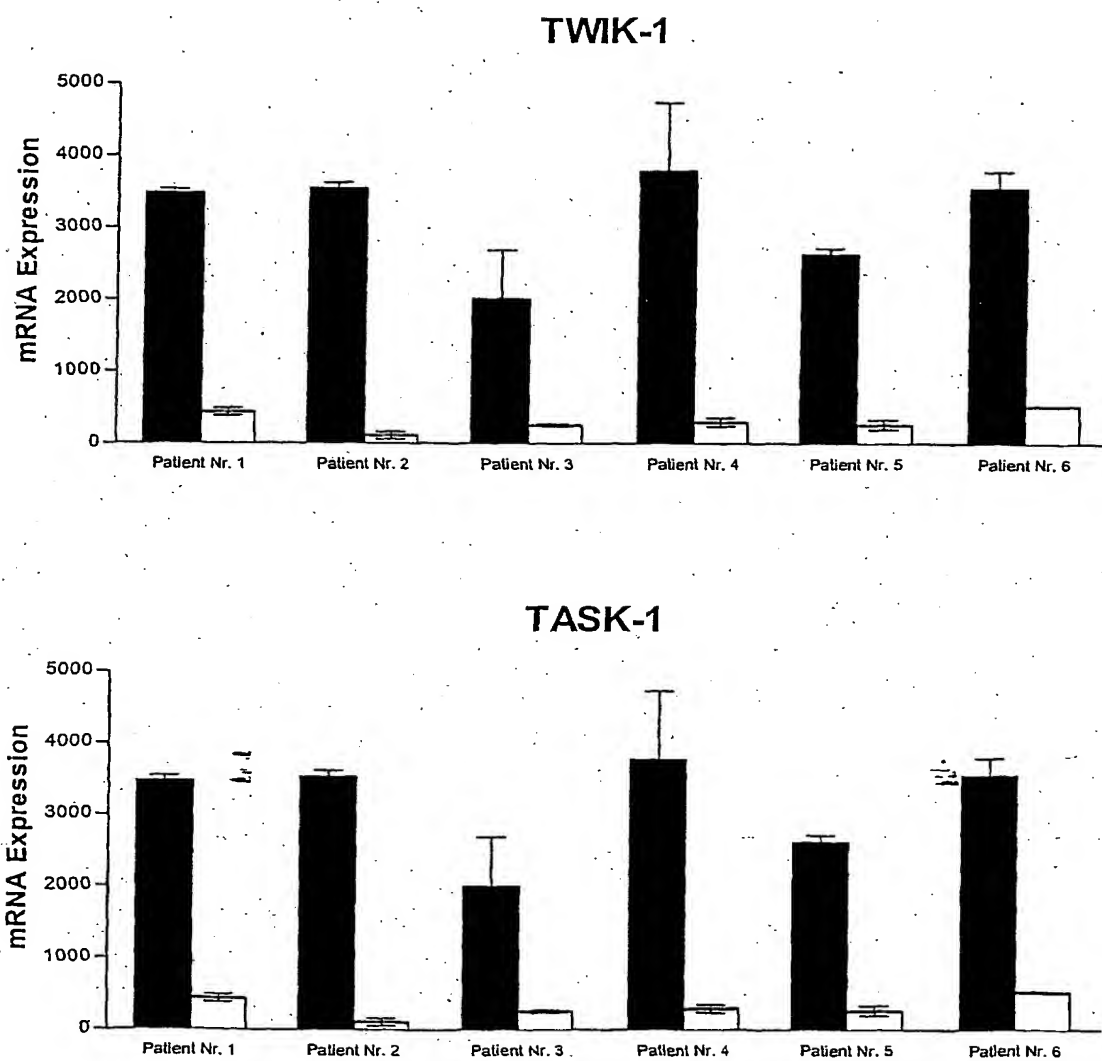


Fig. 3, Fortsetzung

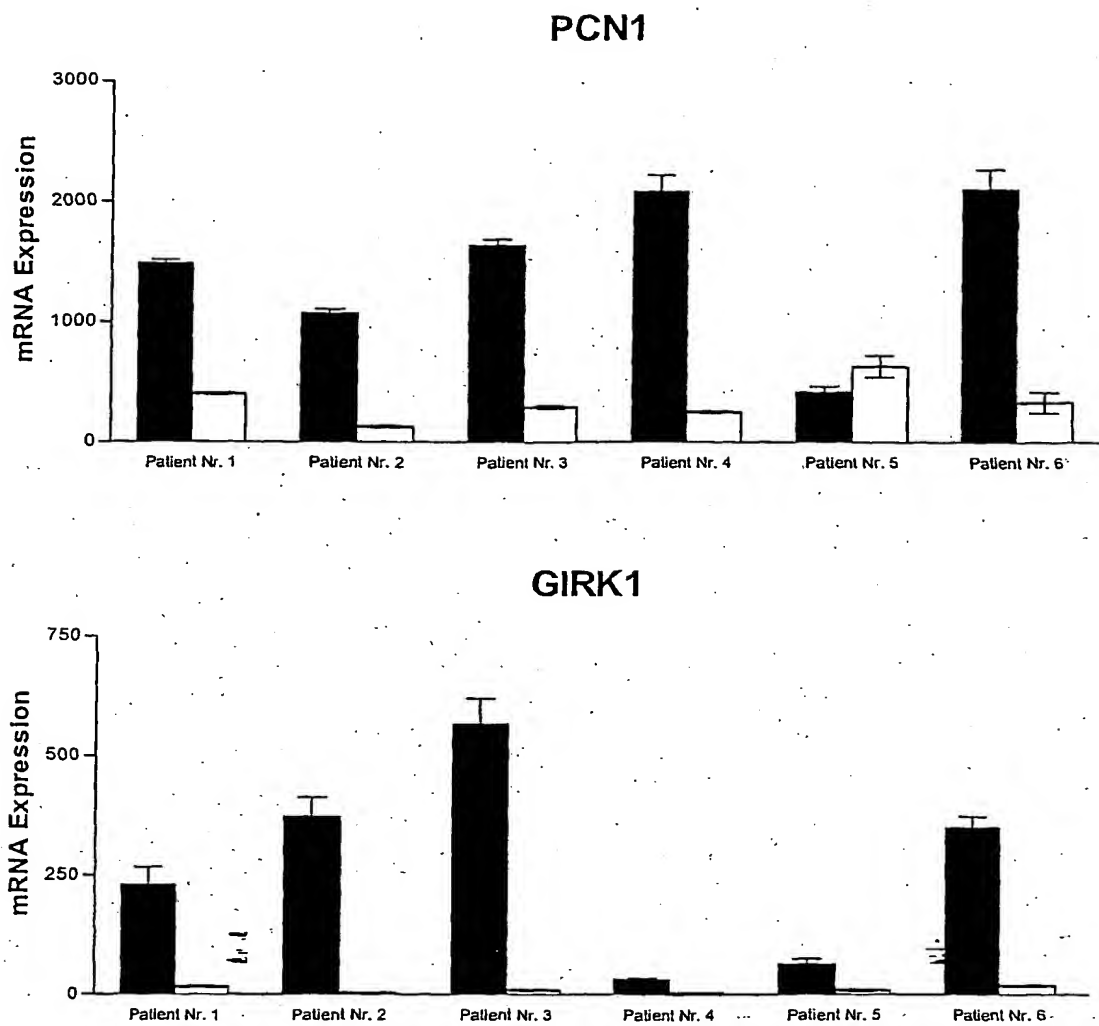


Fig. 3, Fortsetzung

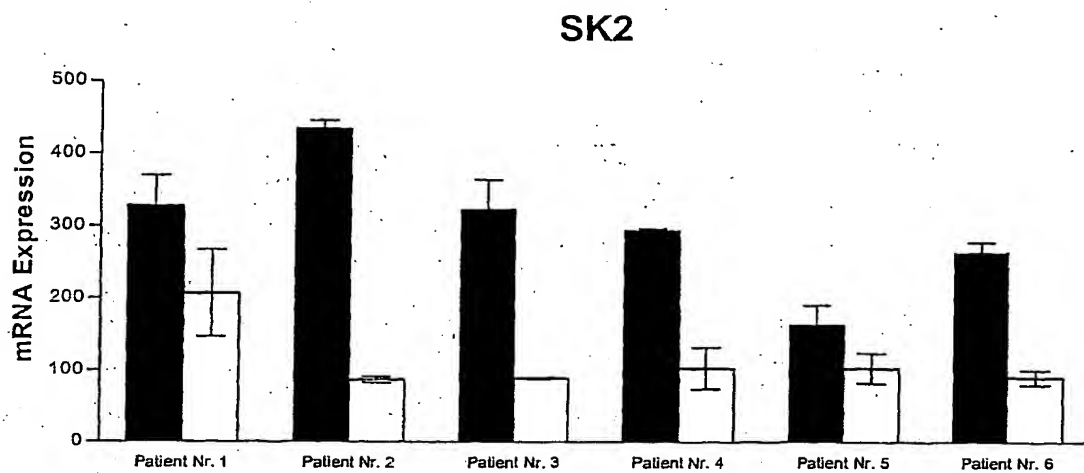
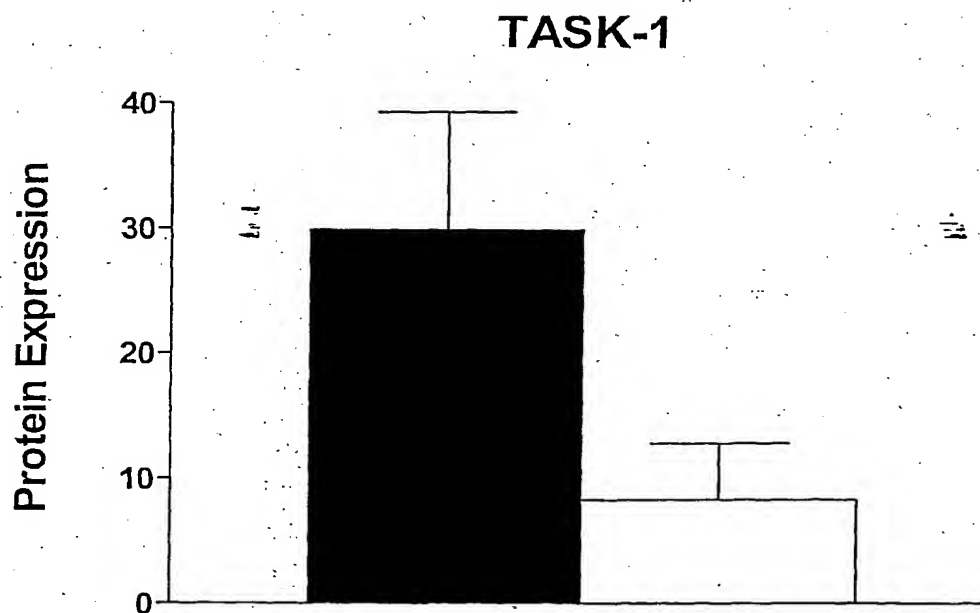


Fig. 4



- 1 **AP12 Rec'd PCT/PTO 18 JAN 2006**

SEQUENCE LISTING

<110> Bayer AG, BHC

<120> Vorhof-selektiv exprimierte Kaliumkanäle

<130> Le A 36 823

<160> 24

<170> PatentIn version 3.1

<210> 1

<211> 1901

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 1

```

gggcaggaag acggcgctgc ccggaggagc ggggcgggcg ggcgcgcggg ggagcgggcg      60
gcgggcggga gccaggcccg ggccggggcg ggggcggcgg ggccagaaga ggcggcgggc      120
cgcgctccgg ccggtctgcg gcgttgccct tggctttggc tttggcggcg gcggtggaga      180
agatgctgca gtccctggcc ggcagctcgt gcgtgcgcct ggtggagcgg caccgctcgg      240
cctggtgctt cggcttcctg gtgctgggct acttgctcta cctggtcttc ggcgcagtgg      300
tcttctcttc ggtggagctg ccctatgagg acctgctgcg ccaggagctg cgcaagctga      360
agcgacgctt cttggaggag caccagtgcc tgtctgagca gcagctggag cagttcctgg      420
gccgggtgct ggaggccagc aactacggcg tgtcggtgct cagcaacgcc tcgggcaact      480
ggaactggga cttcaccctc gcgctcttct tcgccagcac cgtgctctcc accacaggtt      540
atggccacac cgtgcccttg tcagatggag gtaaggcctt ctgcatcatc tactccgtca      600
ttggcattcc cttcaccctc ctgttctga cggtgtggt ccagcgcac accgtgcacg      660
tcaccgcag gccggtcctc tacttcaca tccgctgggg cttctccaag cagggtggtg      720
ccatcgtcca tgccgtgctc cttgggtttg tcaactgtgc ctgcttcttc ttcaccccg      780
ccgctgtctt ctcagtcctg gaggatgact ggaacttcct ggaatccttt tatttttgtt      840
ttatttcctt gagcaccatt ggctggggg attatgtgcc tggggaaggc tacaatcaaa      900
aattcagaga gctctataag attgggatca cgtgttacct gctacttggc cttattgcca      960
tgttggtagt tctggaaacc ttctgtgaac tccatgagct gaaaaaattc agaaaaatgt     1020
tctatgtgaa gaaggacaag gacgaggatc aggtgcacat catagagcat gaccaactgt     1080
ccttctcttc gatcacagac caggcagctg gcatgaaaga ggaccagaag caaaatgagc     1140
cttttgtggc caccagtc tctgcctgcg tggatggccc tgcaaaccat tgagcgtagg     1200

```


atttggtgca ttatgctaga gcaccagggt cagggtgcaa ggaagaggct taagtatggt 1260
cattttttatc agaatgcaaa agcgaaaatt atgtcacttt aagaaatagc tactgtttgc 1320
aatgtcttat taaaaaaciaa caaaaaaaga cacatggaac aaagaagctg tgaccccagc 1380
aggatgtcta atatgtgagg aaatgagatg tccacctaaa attcatatgt gacaaaatta 1440
tctcgacctt acataggagg agaatacttg aagcagtatg ctgctgtggt tagaagcaga 1500
ttttatactt ttaactggaa actttgggggt ttgcatttag atcatttagc tgatggctaa 1560
atagcaaaat ttatatattag aagcaaaaaa aaaaagcata gagatgtggt ttataaatag 1620
gtttatgtgt actggtttgc atgtaccac ccaaatgat ttttttga gaatctaagt 1680
caaactcact atttataatg cataggtaac cattaactat gtacataaa agtataaata 1740
tgtttatatt ctgtacatat ggtttaggtc accagatcct agttagttc tgaaactaag 1800
actatagata ttttgtttct ttgatttct ctttatacta aagaatccag agttgctaca 1860
ataaaataag gggaataata aacttgagag tgaataacca t 1901

<210> 2
<211> 22
<212> DNA
<213> artificial sequence

<220>
<223> primer 1

<400> 2

tgaagaagga caaggacgag ga

22

<210> 3
<211> 20
<212> DNA
<213> artificial sequence

<220>
<223> primer 2

<400> 3

gcctggtctg tgatcgagga

20

<210> 4
<211> 27
<212> DNA
<213> artificial sequence

<220>

<223> probe.

<400> 4

caggtgcaca tcatagagca tgaccaa

27

<210> 5

<211> 2590

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 5

tgccctgcgc ggagagcggc gagcgcagcc atgccccagg ccgcctccgg ggcagcagca	60
gcggcggccg gggccgatgc gcgggcccgg ggccgcgggg ggccggcggc ggcccgggcg	120
ggacgatgaa gcggcagaac gtgcgcagc tggcgctcat cgtgtgcacc ttcacctacc	180
tgctggtggg cgcgcgggtc ttcgacgcgc tggagtcgga gcccgagctg atcgagcggc	240
agcggctgga gctgcggcag caggagctgc gggcgcgcta caacctcagc cagggcggct	300
acgaggagct ggagcgcgtc gtgtgcgcgc tcaagccgca caaggccggc gtgcagtggc	360
gcttcgccgg ctcttcttac ttcgccatca ccgtcatcac caccatcggc tacgggcacg	420
cggcaccag cacggatggc ggcaagggtg tctgcatgtt ctacgcgtg ctgggcatcc	480
cgtcacgct cgtcatgttc cagagcctgg gcgagcgcac caacaccttg gtgaggtacc	540
tgctgcaccg cgccaagaag gggctgggca tgcggcgcgc cgacgtgtcc atggccaaca	600
tggtgctcat cggcttcttc tcgtgcatca gcacgctgtg catcggcgcc gccgccttct	660
cccactacga gactggacc ttcttcagg cctactacta ctgcttcac accctcacca	720
ccatcggtt cggcgactac gtggcgtgc agaaggacca ggccctgcag acgcagccgc	780
agtacgtggc cttcagcttc gtctacatcc ttacgggcct caggtcatc ggcgccttcc	840
tcaacctcgt ggtgctgcgc ttcattgacca tgaacgccga ggacgagaag cgcgacgcg	900
agcaccgcgc gctgctcac cgcaacgggc aggcgggcgg cgccggaggg ggtggcagcg	960
cgcacactac ggacaccgcc tcatccacgg cggcagcggg cgccggcggc ttccgcaacg	1020
tctacgcgga ggtgctgcac ttccagtcca tgtgctcgtg cctgtggtac aagagccgcg	1080
agaagctgca gtactccatc cccatgatca tcccgcgga cctctccacg tccgacacgt	1140
gcgtggagca gagccactcg tcgccgggag ggggcggccg ctacagcgac acgccctcgc	1200
gacgtgcct gtgcagcggg gcgccacgct ccgccatcag ctcggtgtcc acgggtctgc	1260
acagcctgtc caccttccgc ggcctcatga agcgcaggag ctccgtgtga ctgccccgag	1320
ggacctggag cacctggggg cgcggggcgg ggaccctgc tgggaggcca ggagactgcc	1380

```

cctgctgcct tctgcccagt gggaccccgc acaacatccc tcaccactct ccccagcac 1440
ccccatctcc gactgtgcct gcttgacca gccggcagga gccggggctc tgaggacccc 1500
tggggcccc atcggagccc tgcaaatcc gagaaatgtg aaacttggtg gggtcagga 1560
ggaaaggcag aagctgggag cctcccttcc ctttgaaaat ctaagaagct cccagtcctc 1620
agagaccctg ctggtaccac accccaacct cgagggggac ttcattgttc gtgtacgttt 1680
gcattcttat ttatactct gtctgctag gtctcccacc ttcccttggt tccaaaagcc 1740
aggggtgtcta tgtccaagtc acccctactc agccccactc cccttctca tcccagctg 1800
tgtctccaa cctcccttcg tgttgtttg catggcttg cagttatgga gaaagtggaa 1860
accagcagt ccctaaagct ggtccccaga aagcaggaca gaaagaagga gggacaggca 1920
ggcagcagga ggggagagct gggaggcagg aggcagcggc ctgtcagtct gcagaatggt 1980
cgactggag gttcaagcta actggcctcc agccacattc tcatagcagg taggacttca 2040
gccttcaga cactgccctt agaattctga acagaagact tcagactcac cataattgct 2100
gataattacc cactcttaaa tttgtcagat gatttttagc ctctgaaaac tctatgctgg 2160
ccactgattc ctttgagtct caaaaaccc tacttaggtc atcagggcag gagttctcac 2220
tccatttta cagatgagaa tactgaggcc tggacagggt aagtgaccag agagcaaaag 2280
gcaaaggggt gggggctggg tgcagtggct cacacctgta ttccaacac ttttgaggc 2340
tgaggttgga ggattgctg agcccaggaa ttcgagacca gcctagggtga catagtgaga 2400
ccccatctct acaaaaaata aaaaattaac cagggtgtgt ggcacgtgcc tgggagtccc 2460
agcgacttgg gaggtgagg tgggaggatt gtttgagcct gggaggtoga ggctgtagt 2520
agccctgatt gcaccactgt actccagcct gggtgacagg gcaagacct gtctcaaaaa 2580
aaaaaaaaa 2590

```

```

<210> 6
<211> 19
<212> DNA
<213> artificial sequence

```

```

<220>
<223> primer 1

```

```

<400> 6

```

```

acgtctacgc ggagggtgct

```

19

```

<210> 7
<211> 18
<212> DNA

```

<213> artificial sequence

<220>

<223> primer 2

<400> 7

tctcgcggct cttgtacc

18

<210> 8

<211> 26

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> probe

<400> 8

cacttccagt ccatgtgctc gtgcct

26

<210> 9

<211> 2890

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 9

ctcgcgccca ggggagaagg agaggcgtct gcagggggca gagaccgcag ctacctgccg	60
ggtgcgcccc ccaccagga gcgtcgtctt cgtccccctt cctccccgc cccacctcc	120
ttattgggtc tagttgcag cgtccagctc ctgcgccttc gcttcgcgtt tgaatctggc	180
tcgccccctc gtattatgtc tgcactccga aggaatttg gggacgatta tcaggtagtg	240
accacatcgt ccagcggctc gggcttgca cccaggggc caggccagga ccctcagcag	300
cagcttggtc ccaagaagaa gcggcagcgg ttcgtggaca agaacggccg gtgcaatgta	360
cagcacggca acctgggcag cgagacaagc cgtacacctt cggacctctt caccacgctg	420
gtggacctca agtggcgctg gaacctcttc atcttcattc tcacctacac cgtggcctgg	480
cttttcatgg cgtccatgtg gtgggtgatc gcctacactc ggggcgacct gaacaaagcc	540
cacgtcggta actacacgcc ttgcgtggcc aatgtctata acttcccttc tgccttcctc	600
ttcttcatcg agacggagge caccatcggc tatggctacc gatacatcac agacaagtgc	660
cccgagggca tcacctctt cctcttcag tccatcctgg gctccatcgt ggacgccttc	720
ctcatcggct gcatgttcat caagatgtcc cagcccaaga agcgcgccga gacctcatg	780

ttcagcgagc acgcggtgat ctccatgagg gacggaaaac tcacgcttat gttccgggtg	840
ggcaacctgc gcaacagcca catggtctcc ggcagattc gctgcaagct gctcaaatct	900
cggcagacac ctgaggggtga gttccttccc cttgaccaac ttgaactgga tgtaggtttt	960
agtacagggg cagatcaact ttttcttggtg tccccctca caatttgcca cgtgatcgat	1020
gccaaaagcc ccttttatga cctatcccag cgaagcatgc aaactgaaca gttcgagatt	1080
gtcgtcatcc tagaaggcat tgtggaaaca actgggatga cttgtcaagc tcgaacatca	1140
tatactgaag atgaagttct ttggggatcat cgtttttttc ctgtaatttc cttagaagag	1200
ggattcttta aagttgatta ctcccagttc catgcaacat ttgaagtccc caccacacct	1260
tacagtgtga aagagcagga ggaaatgctt ctcatgtcgt cccctttaat agcaccagcc	1320
ataactaaca gcaaagaaag acataattct gtggaatgct tagatggact agatgatatt	1380
actacaaaac taccatctaa gctgcagaaa attactggaa gagaagactt tccccaaaa	1440
ctcttgagga tgagttctac aacttcagaa aaagcctaca gcttgggaga cttgcccatg	1500
aaacttcaac gaataagttc agttccgggc aactcagaag aaaaactggt atctaaaacc	1560
accaagatgt tatctgatcc catgagccag tctgtggctg atttgccacc aaagcttcaa	1620
aagatggctg gaggagcagc taggatggaa gggaacctc cagccaaatt aagaaaaatg	1680
aactctgac gcttcacata acaaagcact cccttaggca ttatttaatg tttgatttag	1740
taatagtcca atatttggcg atgaggtaat tctccctaag gaatctgaaa gtatattttc	1800
ctcccagttc tacaagcata tttgagaacc ctcccttcc caagtattgc gaatgtgcag	1860
aaagcaacag ttacggaggg aggacatcat aaggaagtta ttaacgggca tgtattatca	1920
catcaagcat gcaataatgt gcaaattttg catttagttt tatggcatga tttatatatg	1980
gcatatttat attgtatatt ctggaaaaaa aatatatata tatatttaa ggggagatac	2040
tctccctgac atttctaaca tatgtattaa gccaaacatg agtgaatagc tttcaggggc	2100
ataaaactaa atatatgtct gtgtgtgtgt gtgtatgtat acacacatat acatatatat	2160
atacacatac atacacatac atacatacat acatatatat ctgataaaat tgtgatgttt	2220
tgttcaaagt tgtagttctt gtgcatgitt actttattag agtaggaagg ctactggcat	2280
taattattaa taccaaatat tttagcctta aattttgtc attttaaaat ctgatttaat	2340
gttttctgct gtttaaggtc ttgggaggct ttcaattgta ttttatatga gagaatcaca	2400
caagtttggtg ctatctatgg ccttgcaaaa atataaccat tacatgttta aattgtaaat	2460
tttagagcat accagtactc agtatagcat tgaacatttc ttatgatttt taaaagttgc	2520
tagtactggg gagaaataat tgttgattaa tttgagaatt attcctttcc tagactaatt	2580
aaaatctgga aatctgtttt gtatatgac taatacaaag atgagctctg aacaacact	2640
gaatcatgtt aatagacagt agccaagtta tattgaatat atcagaatct gtgtgaagtt	2700

acacaattaa ttgtccctgt ttcaaactga gtaaattgga aacattttct ttctttttct 2760
ggaaattttg tccattttta aaaccaatca ttttaagaag acatgacaat gcaatgaaac 2820
agatgataaa tatttatgct taaaatatgt atgtctaatt gagtctcttt ttatttctgt 2880
tttcttggtt 2890

<210> 10
<211> 20
<212> DNA
<213> artificial sequence

<220>
<223> primer 1

<400> 10

gttccacgca acatttgaag 20

<210> 11
<211> 20
<212> DNA
<213> artificial sequence

<220>
<223> primer 2

<400> 11

gggacgacat gagaagcatt 20

<210> 12
<211> 24
<212> DNA
<213> artificial sequence

<220>
<223> probe

<400> 12

cccacccac-cttacagtgt gaaa 24

<210> 13
<211> 2510
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 13

cggcggcagc agcccatgcc tccggtgcaa cagctgcgcc tcctccggtg ccccgggcgc 60
 gggggcgggg gataacctgt ccctgctgct ccgcacctcc tcgcccggcg gcgccttccg 120
 gaccgcgacc tcctcgccgc tgcggggctc gtccctgctgc tgctgctgct gctcgtcgcg 180
 ccggggcagc cagctcaatg tgagcgagct gacgccgctc agccatgccg gtgcgctccg 240
 gcagcagtac gcgcagcagt ccgcgcagca gtccggcgctc gcctcccagt accaccagtg 300
 ccacagcctg cagcccgcgc ccagccccac gggcagcctc ggcagtctgg gctccgcgcc 360
 cccgctctcg caccaccacc accaccgcga cccggcgcac caccagcacc accagcccca 420
 ggcgcgcgc gagagcaacc ccttcaccga aatagccatg agcagctgca ggtacaacgg 480
 gggcgctcatg cggccgctca gcaacttgag cgcgtcccgc cggaacctcc acgagatgga 540
 ctgagaggcg cagcccctgc agccccccgc gtctgtcgga ggaggtggcg gcgcgtcctc 600
 cccgtctgca gacgtgcgc ccgcgcgcgc tgtttcgctc tcagcccccg agatcggtgt 660
 gtctaagccc gagcacaaca actccaaca cctggcgctc tatggaaccg gcggcggagg 720
 cagcactgga ggaggcggcg gcgggtggagg gagcgggcac ggcagcagca gtggcaccaa 780
 gtccagcaaa aagaaaaacc agaacatcgg ctacaagctg ggccaccggc gcgccctgtt 840
 cgaaaagcgc aagcggetca gcgactacgc gtcctcttc ggcagtgtcg gcatcggtgt 900
 catggtcatc gagaccgagc tgctgtgggg cgcctacgac aaggcgctgc tgtattcctt 960
 agctctgaaa tgccttatca gtctctccac gatcatcctg ctcggtctga tcatcggtga 1020
 ccacgccagg gaaatacagt tgttcatggt ggacaatgga gcagatgact ggagaatagc 1080
 catgacttat gagcgtattt tcttcatctg cttggaaata ctggtgtgtg ctattcatcc 1140
 catacctggg aattatacat tcacatggac ggcccggtt gccttctcct atgccccatc 1200
 cacaaccacc gctgatgtgg atattatctt atctatacca atgttcttaa gactctatct 1260
 gattgccaga gtcctgcttt tacatagcaa acttttcaat gatgcctcct ctagaagcat 1320
 tggagcactt aataagataa acttcaatac acgttttgtt atgaagactt taatgactat 1380
 atgccagga actgtactct tggtttttag tatctcatta tggataattg ccgcatggac 1440
 tgtccgagct tgtgaaagg accatgatca acaggatgtt actagcaact tccttgagc 1500
 gatgtggttg atatcaataa cttttctctc cattgggtat ggtgacatgg tacctaacac 1560
 atactgtgga aaaggagtct gcttacttac tggaaattat ggtgctgggt gcacagccct 1620
 ggtggtagct gtagtggcaa ggaagctaga acttaccaaa gcagaaaaac acgtgcacaa 1680
 tttcatgatg gatactcagc tgactaaaag agtaaaaaat gcagctgccg atgtactcag 1740
 ggaaacatgg ctaatttaca aaaatacaaa gctagtgaag aagatagatc atgcaaaagt 1800
 aagaaaacat caacgaaaat tcctgcaagc tattcatcaa ttaagaagtg taaaaatgga 1860

gcagaggaaa ctgaatgacc aagcaaacac tttggtggac ttggcaaaga cccagaacat 1920
catgtatgat atgattttctg acttaaacga aaggagtga gacttcgaga agaggattgt 1980
taccctggaa acaaaactag agactttgat tggtagcatc cacgccctcc ctgggctcat 2040
aagccagacc atcaggcagc agcagagaga tttcattgag gctcagatgg agagctacga 2100
caagcacgtc acttacaaatg ctgagcggtc ccggtcctcg tccaggaggc ggcggtcctc 2160
ttccacagca ccaccaactt catcagagag tagctagaag agaataagtt aaccacaaaa 2220
taagactttt tgccatcata tggtaaatat tttagctttt attgtaaagc ccctatggtt 2280
ctaatacagc ttatccgggt tctgatgtca gaatcctggg aacctgaaca ctaagtttta 2340
ggccaaaatg agtgaaaact cttttttttt ctttcagatg cacagggaaat gcacctatta 2400
ttgctatata gattgttctt cctgtaattt cactaacttt ttattcatgc acttcaaaca 2460
aactttacta ctacattata tgatatataa taaaaaaagt taatttcgga 2510

<210> 14
<211> 19
<212> DNA
<213> artificial sequence

<220>
<223> primer 1

<400> 14

tgacacagccc tggtagtag 19

<210> 15
<211> 21
<212> DNA
<213> artificial sequence

<220>
<223> primer 2

<400> 15

tccatcatga aattgtcac g 21

<210> 16
<211> 31
<212> DNA
<213> artificial sequence

<220>
<223> probe

<400> 16

tggcaaggaa gctagaactt accaaagcag a 31

<210> 17
<211> 2865
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 17

ttttcggctg cttggtaacg ggctgccaga agagagagag gcagagagca gggcagcggc 60
ttcttgacgt cagggccaag cgaggggacg gcgccagaa cccagctct cccagagag 120
gggcccggcg accgctggag cggagcctga cgccaggcgc ccgaggagcg tgagtagggg 180
gcgcgggagc cggctcagctg gggcgagca tgccctctgc tcccgcgcca tggagatcgc 240
cctggtgccc ctggagaacg gcggtgccat gaccgtcaga ggaggcgatg aggcccgggc 300
aggctgcggc caggccacag ggggagagct ccagtgtccc ccgacggctg ggctcagcga 360
tgggccaag gagccggcgc caaaggggcg cggcgcgag agagacgcgg actcgggagt 420
gcggcccttg cctccgctgc cggaccggg agtgcgccc ttgcctccgc tgccagagga 480
gctgccacgg cctcgacggc cgcctcccga ggacgaggag gaagaaggcg atcccggcct 540
gggcacggtg gaggaccagg ctctgggcac ggcgtccctg caccaccagc gcgtccacat 600
caacatctcc gggctgcgct ttgagacgca gctgggcacc ctggcgagcgt tccccaacac 660
actcctgggg gacccgcca agcgctcgc ctacttcgac cccctgagga acgagtactt 720
cttcgaccgc aaccggccca gcttcgacgg tatectctac tactaccagt cggggggccg 780
cctgcggagg ccggtcaacg tctccctgga cgtgttcgcg gacgagatac gcttctacca 840
gctgggggac gaggccatgg agcgcttcg cgaggatgag ggcttcatta aagaagagga 900
gaagcccctg ccccgcaacg agttccagcg ccagggtgtg cttatcttcg agtatccgga 960
gagctctggg tcgcgcggg ccctcgccat cgtctcggtc ttggttatcc tcatctccat 1020
catcaccttc tgcttgaga ccctgcctga gttcagggat gaacgtgagc tgctccgcca 1080
ccctccggcg ccccaccagc ctcccgcgc cgcctctggg gccaacggca gcgggggtcat 1140
ggccccgccc tctggcccta cgggtgcacc gctcctgccc aggaccctgg ccgaccctt 1200
cttcatcgtg gagaccacgt gcgtcatctg gttcaccttc gagctgctcg tgcgcttctt 1260
cgcctgcccc agcaaggcag ggttctcccg gaacatcatg aacatcatcg atgtggtggc 1320
catcttcccc tacttcatca ccctgggcac cgaactggca gagcagcagc caggggggtg 1380

```

aggaggcggc cagaatgggc agcaggccat gtccctggcc atcctccgag tcatccgcct 1440
gggccgggtg ttccgcatct tcaagctctc ccgccactcc aaggggctgc agatccctgg 1500
caagaccttg caggcctcca tgaggagct ggggctgtc atcttcttcc tcttcacgg 1560
ggtcacctc ttctccagt ccgtctactt cgcagaggct gacaaccagg gaaccattt 1620
ctctagcatc cctgacgcct tctggggggc agtgggtacc atgaccactg tgggctacgg 1680
ggacatgagg cccatcactg ttgggggcaa gatcgtgggc tcgctgtgtg ccatcgccgg 1740
ggtcctcacc attgccctgc ctgtgcccg catcgtctcc aacttcaact acttctacca 1800
ccgggaaacg gatcacgagg agccggcagt ccttaaggaa gagcagggca ctcagagcca 1860
ggggccgggg ctggacagag gaggccagcg gaaggtcagc gggagcaggg gatccttctg 1920
caaggctggg gggaccctgg agaatgcaga cagtggccga aggggcagct gccccctaga 1980
gaagtgtaac gtcaaggcca agagcaacgt ggacttgagg aggtcccttt atgccctctg 2040
cctggacacc agccgggaaa cagatttgtg aaaggagatt caggcagact ggtggcagtg 2100
gagtagggaa tgggaggctt gctgaacatg gatattctaca ttataccgca gattatttga 2160
agtcacactg taacctcagt ctaccctctt cctttcactc ctttctccc tccctcgatc 2220
ccccatttt ctctattctt tccatgacac ccaagggtcg cctattttta aaaagtacca 2280
cattccatga cgcaggagct gtggaaatgg tgagcgctgt gagatggatg tatttgtagc 2340
cagtctccta taccagcag agggataacc caaacaaaa tgactctaaa tagccagat 2400
ccaagagat tatgtaactc ctccatccat gtgttccaaa tttgctttac atatgattgt 2460
atttgtgtat aggggaaaat attattttta tgcttggtaa gtggcttttt gtactgtagt 2520
tcagatagag atattttggg tatattttca agatacatgt tgtatttatg gaagaaagag 2580
ttgtcctgat gttttctgt gttacttata tttagagtcag agatcttggg atgggctgtt 2640
ctgtttctg tgtctccaag cctctgtctt ttctgggatg tggattggg gctttgtgtc 2700
tagggcagag tatgttcttg aagaaaggca aatctgactt tttctgtgcg ccttaaaca 2760
ttcttgaac tttcttcaa aagcatttta atgatattgg aggaatactt ctgataattt 2820
attgtcttta ttttatccc aggaataaaa aggttacctt gttga 2865

```

```

<210> 18
<211> 23
<212> DNA
<213> artificial sequence

```

```

<220>
<223> primer 1

```

```

<400> 18

```

caggggaaccc atttctctag cat

23

<210> 19
 <211> 19
 <212> DNA
 <213> artificial sequence

<220>
 <223> primer 2

<400> 19

tgtccccgta gccacagt

19

<210> 20
 <211> 23
 <212> DNA
 <213> artificial sequence

<220>
 <223> probe

<400> 20

acgccttctg gtgggcagtg gtc

23

<210> 21
 <211> 1793
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<400> 21

cgcgctccgcc ccgcgagcac agagcctcgc ctttgccgat ccgcgcgccg tccacaccgc 60
 ccgccagctc accatggatg atgatatcgc cgcgctcgtc gtcgacàacg gctccggcat 120
 gtgcaaggcc ggcttcgcgg gcgacgatgc cccccgggcc gtcttcccct ccatcgtggg 180
 gcgccccagg caccagggcg tgatggtggg catgggtcag aaggattcct atgtgggcga 240
 cgaggcccag agcaagagag gcatactcac cctgaagtac cccatcgagc acggcatcgt 300
 caccaactgg gacgacatgg agaaaatctg gcaccacacc ttctacaatg agctgcgtgt 360
 ggctcccagag gagcaccgcc tgctgctgac cgaggccccc ctgaacccca aggccaaccg 420
 cgagaagatg acccagatca tgtttgagac cttcaacacc ccagccatgt acgttgctat 480
 ccaggctgtg ctatccctgt acgcctctgg ccgtaccact ggcatcgtga tggactccgg 540
 tgacgggggtc acccacactg tgcccatcta cgagggggtat gccctcccc atgccatcct 600

```

gcgtctggac ctggctggcc gggacctgac tgactacctc atgaagatcc tcaccgagcg      660
cggctacagc ttcaccacca cggccgagcg ggaaatcgtg cgtgacatta aggagaagct      720
gtgctacgtc gccctggact tgcagcaaga gatggccacg gctgcttcca gctcctccct      780
ggagaagagc tacgagctgc ctgacggcca ggtcatcacc attggcaatg agcggttccg      840
ctgccctgag gcaactcttc agccttcctt cctgggcatg gagtccctgtg gcatccacga      900
aactaccttc aactccatca tgaagtgtga cgtggacatc cgcaaagacc tgtacgccaa      960
cacagtgtg tctggcgcca ccaccatgta ccctggcatt gccgacagga tgcagaagga     1020
gatcactgcc ctggcaccca gcacaatgaa gatcaagatc attgctcctc ctgagcgcaa     1080
gtactccgtg tggatcggcg gctccatcct ggctcgtg tccaccttc agcagatgtg     1140
gatcagcaag caggagtatg acgagtccgg cccctccatc gtccaccgca aatgcttcta     1200
ggcggactat gacttagttg cgttacaccc tttcttgaca aaacctaaact tgcgcagaaa     1260
acaagatgag attggcatgg ctttatttgt tttttttgtt ttgttttggg tttttttttt     1320
tttttggtt gactcaggat ttaaaaactg gaacggtgaa ggtgacagca gtcggttgga     1380
gcgagcatcc cccaaagtcc acaatgtggc cgaggacttt gattgcacat tgttggtttt     1440
ttaatagtca ttccaaatat gagatgcatt gttacaggaa gtcccttgcc atcctaaaag     1500
ccacccact tctctctaag gagaatggcc cagtcctctc ccaagtccac acaggggagg     1560
tgatagcatt gctttcgtgt aaattatgta atgcaaaatt tttttaatct tcgccttaat     1620
acttttttat tttgttttat tttgaatgat gagccttcgt gccccccctt cccctttttt     1680
gtccccaac ttgagatgta tgaaggcttt tggctcctc gggagtgggt ggaggcagcc     1740
aggggttacc tgtacactga cttgagacca gttgaataaa agtgcacacc tta          1793

```

```

<210> 22
<211> 20
<212> DNA
<213> artificial sequence

```

```

<220>
<223> primer 1

```

```

<400> 22

```

```

tccaccttcc agcagatgtg      20

```

```

<210> 23
<211> 21
<212> DNA
<213> artificial sequence

```

<220>
<223> primer 2

<400> 23

ctagaagcat ttgcggtgga c

21

<210> 24
<211> 28
<212> DNA
<213> artificial sequence

<220>
<223> probe

<400> 24

atcagcaagc aggagtatga cgagtccg

28

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/EP2004/007364

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 7 C07K14/705 A61P9/06

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 C07K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, BIOSIS, WPI Data, PAJ, MEDLINE, EMBASE

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 2002/094558 A1 (FINK MICHEL ET AL) 18 July 2002 (2002-07-18) paragraphs '0088!', '0089!; claims 17,18	1-5
X	US 5 670 335 A (KUBO YOSHIHIRO ET AL) 23 September 1997 (1997-09-23) column 5, lines 1-44 columns 27-28	1-5
X	US 2003/124568 A1 (EISENHARDT GISELA ET AL) 3 July 2003 (2003-07-03) paragraphs '0015!', '0017!', '0075!', '0108! -/--	3,4

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents:

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the international filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- *Z* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

27 October 2004

Date of mailing of the international search report

11/11/2004

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Deck, A

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP2004/007364

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument		Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie		Datum der Veröffentlichung
US 2002094558	A1	18-07-2002	US	6309855 B1	30-10-2001
			US	2002032322 A1	14-03-2002
US 5670335	A	23-09-1997	US	5492825 A	20-02-1996
			WO	9504820 A1	16-02-1995
US 2003124568	A1	03-07-2003	DE	10007468 A1	23-08-2001
			AU	5032201 A	27-08-2001
			WO	0161001 A2	23-08-2001
			EP	1255836 A2	13-11-2002

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCI/EP2004/007364

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	KINDLER CHRISTOPH H ET AL: "Local anesthetic inhibition of baseline potassium channels with two pore domains in tandem" ANESTHESIOLOGY (HAGERSTOWN), vol. 90, no. 4, April 1999 (1999-04), pages 1092-1102, XP009038911 ISSN: 0003-3022 the whole document	3,4
X	TALLEY EDMUND M ET AL: "Modulation of TASK-1 (Kcnk3) and TASK-3 (Kcnk9) potassium channels. Volatile anesthetics and neurotransmitters share a molecular site of action" JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, vol. 277, no. 20, 17 May 2002 (2002-05-17), pages 17733-17742, XP001203547 ISSN: 0021-9258 page 17741, paragraph 3	3,4
X	TERSTAPPEN GEORG C ET AL: "The antidepressant fluoxetine blocks the human small conductance calcium-activated potassium channels SK1, SK2 and SK3." NEUROSCIENCE LETTERS, vol. 346, no. 1-2, 14 June 2003 (2003-06-14), pages 85-88, XP002302907 ISSN: 0304-3940 *Veröffentlicht im Internet am 14. Juni 2003* the whole document	3,4
Y	BARBUTI ANDREA ET AL: "Block of the background K ⁺ channel TASK-1 contributes to arrhythmogenic effects of platelet-activating factor" AMERICAN JOURNAL OF PHYSIOLOGY, vol. 282, no. 6 Part 2, June 2002 (2002-06), pages H2024-H2030, XP009038912 ISSN: 0002-9513 the whole document	1-5
Y	WANG ZHIGUO ET AL: "Differential distribution of inward rectifier potassium channel transcripts in human atrium versus ventricle" CIRCULATION, vol. 98, no. 22, 1 December 1998 (1998-12-01), pages 2422-2428, XP002302908 ISSN: 0009-7322 the whole document	1-5

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP2004/007364

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	<p>NATTEL STANLEY ET AL: "Evolution, mechanisms, and classification of antiarrhythmic drugs: Focus on class III actions"</p> <p>AMERICAN JOURNAL OF CARDIOLOGY, Bd. 84, Nr. 9A, 4. November 1999 (1999-11-04), Seiten 11R-19R, XP009038876</p> <p>ISSN: 0002-9149</p> <p>in der Anmeldung erwähnt</p> <p>Abbildung 3</p>	1,3-5
X	<p>MAINGRET FRANCOIS ET AL: "The endocannabinoid anandamide is a direct and selective blocker of the background K⁺ channel TASK-1"</p> <p>EMBO (EUROPEAN MOLECULAR BIOLOGY ORGANIZATION) JOURNAL, Bd. 20, Nr. 1-2, 15. Januar 2001 (2001-01-15), Seiten 47-54, XP001203548</p> <p>ISSN: 0261-4189</p> <p>Seite 52, Absatz 3</p>	3,4
X	<p>LESAGE F ET AL: "Molecular and functional properties of two-pore-domain potassium channels"</p> <p>AMERICAN JOURNAL OF PHYSIOLOGY: RENAL, FLUID AND ELECTROLYTE PHYSIOLOGY, AMERICAN PHYSIOLOGICAL SOCIETY, US, Bd. 279, Nr. 5 Part 2, November 2000 (2000-11), Seiten F793-F801, XP002256647</p> <p>ISSN: 0363-6127</p> <p>Tabelle 2</p>	3,4
X	<p>MATSUDA TOMOYUKI ET AL: "Effect of NIP-142 on carbachol-induced myocardial action potential shortening and human GIRK1/4 channel current"</p> <p>JAPANESE JOURNAL OF PHARMACOLOGY, Bd. 88, Nr. Supplement 1, 2002, Seite 260P, XP009038919</p> <p>& 75TH ANNUAL MEETING OF THE JAPANESE PHARMACOLOGICAL SOCIETY; KUMAMOTO, JAPAN; MARCH 13-15, 2002</p> <p>ISSN: 0021-5198</p> <p>Absatz '0796!</p>	1,3-5

-/--

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP2004/007364

A. KLASIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES
IPK 7 C07K14/705 A61P9/06

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

IPK 7 C07K

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

EPO-Internal, BIOSIS, WPI Data, PAJ, MEDLINE, EMBASE

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	US 2002/094558 A1 (FINK MICHEL ET AL) 18. Juli 2002 (2002-07-18) Absätze '0088!', '0089!; Ansprüche 17,18	1-5
X	US 5 670 335 A (KUBO YOSHIHIRO ET AL) 23. September 1997 (1997-09-23) Spalte 5, Zeilen 1-44 Spalten 27-28	1-5
X	US 2003/124568 A1 (EISENHARDT GISELA ET AL) 3. Juli 2003 (2003-07-03) Absätze '0015!', '0017!', '0075!', '0108!	3,4
	----- -/-	

☒ Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

☒ Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

A Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

E älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

L Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

O Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

P Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

T Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

X Veröffentlichung von besonderer Bedeutung: die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

Y Veröffentlichung von besonderer Bedeutung: die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

Z Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

27. Oktober 2004

Absenddatum des internationalen Recherchenberichts

11/11/2004

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde

Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Deck, A

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/EP2004/007364

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 2002094558 A1	18-07-2002	US 6309855 B1 US 2002032322 A1	30-10-2001 14-03-2002
US 5670335 A	23-09-1997	US 5492825 A WO 9504820 A1	20-02-1996 16-02-1995
US 2003124568 A1	03-07-2003	DE 10007468 A1 AU 5032201 A WO 0161001 A2 EP 1255836 A2	23-08-2001 27-08-2001 23-08-2001 13-11-2002

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP2004/007364

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	KINDLER CHRISTOPH H ET AL: "Local anesthetic inhibition of baseline potassium channels with two pore domains in tandem" ANESTHESIOLOGY (HAGERSTOWN), Bd. 90, Nr. 4, April 1999 (1999-04), Seiten 1092-1102, XP009038911 ISSN: 0003-3022 das ganze Dokument	3,4
X	TALLEY EDMUND M ET AL: "Modulation of TASK-1 (Kcnk3) and TASK-3 (Kcnk9) potassium channels. Volatile anesthetics and neurotransmitters share a molecular site of action" JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, Bd. 277, Nr. 20, 17. Mai 2002 (2002-05-17), Seiten 17733-17742, XP001203547 ISSN: 0021-9258 Seite 17741, Absatz 3	3,4
X	TERSTAPPEN GEORG C ET AL: "The antidepressant fluoxetine blocks the human small conductance calcium-activated potassium channels SK1, SK2 and SK3." NEUROSCIENCE LETTERS, Bd. 346, Nr. 1-2, 14. Juni 2003 (2003-06-14), Seiten 85-88, XP002302907 ISSN: 0304-3940 *Veröffentlicht im Internet am 14. Juni 2003* das ganze Dokument	3,4
Y	BARBUTI ANDREA ET AL: "Block of the background K ⁺ channel TASK-1 contributes to arrhythmogenic effects of platelet-activating factor" AMERICAN JOURNAL OF PHYSIOLOGY, Bd. 282, Nr. 6 Part 2, Juni 2002 (2002-06), Seiten H2024-H2030, XP009038912 ISSN: 0002-9513 das ganze Dokument	1-5
Y	WANG ZHIGUO ET AL: "Differential distribution of inward rectifier potassium channel transcripts in human atrium versus ventricle" CIRCULATION, Bd. 98, Nr. 22, 1. Dezember 1998 (1998-12-01), Seiten 2422-2428, XP002302908 ISSN: 0009-7322 das ganze Dokument	1-5

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/EP2004/007364

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	NATTEL STANLEY ET AL: "Evolution, mechanisms, and classification of antiarrhythmic drugs: Focus on class III actions" AMERICAN JOURNAL OF CARDIOLOGY, vol. 84, no. 9A, 4 November 1999 (1999-11-04), pages 11R-19R, XP009038876 ISSN: 0002-9149 cited in the application figure 3	1,3-5
X	MAINGRET FRANCOIS ET AL: "The endocannabinoid anandamide is a direct and selective blocker of the background K ⁺ channel TASK-1" EMBO (EUROPEAN MOLECULAR BIOLOGY ORGANIZATION) JOURNAL, vol. 20, no. 1-2, 15 January 2001 (2001-01-15), pages 47-54, XP001203548 ISSN: 0261-4189 page 52, paragraph 3	3,4
X	LESAGE F ET AL: "Molecular and functional properties of two-pore-domain potassium channels" AMERICAN JOURNAL OF PHYSIOLOGY: RENAL, FLUID AND ELECTROLYTE PHYSIOLOGY, AMERICAN PHYSIOLOGICAL SOCIETY, US, vol. 279, no. 5 Part 2, November 2000 (2000-11), pages F793-F801, XP002256647 ISSN: 0363-6127 table 2	3,4
X	MATSUDA TOMOYUKI ET AL: "Effect of NIP-142 on carbachol-induced myocardial action potential shortening and human GIRK1/4 channel current" JAPANESE JOURNAL OF PHARMACOLOGY, vol. 88, no. Supplement 1, 2002, page 260P, XP009038919 & 75TH ANNUAL MEETING OF THE JAPANESE PHARMACOLOGICAL SOCIETY; KUMAMOTO, JAPAN; MARCH 13-15, 2002 ISSN: 0021-5198 paragraph '0796!	1,3-5

-/--

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☒ FADED TEXT OR DRAWING
- ☐ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☒ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☐ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.